

QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS POR ELETROFORESE (SDS-PAGE) EM TORTA DE MAMONA

Bárbara Amorim Silva¹; José Luis Ramírez Ascheri² & Carlos W. P. Carvalho³

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia; BR 465 km 7, CEP 23.890-000 – Seropédica – RJ, barbaraamorim@hotmail.com; ²Embrapa Agroindústria de Alimentos. Avenida das Américas, 29501, CEP 23020-470, Rio de Janeiro – RJ.

Palavra-chave: eletroforese, ricina, mamona, toxicidade.

RESUMO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) destaca-se entre as oleaginosas por ter um alto valor econômico. O óleo extraído de suas sementes tem destino comercial bem definido, movimentando vários seguimentos industriais e de alto valor agregado, gerando como subproduto uma torta com elevado teor de proteínas. Uma alternativa de aproveitamento destes subprodutos seria o uso como ração animal, agregando valor a este resíduo. Entretanto, a presença de proteínas tóxicas impede a utilização para este fim. O objetivo deste trabalho foi determinar a quantificação e identificação de proteínas por eletroforese (SDS-PAGE) em torta de mamona. A ricina encontrada na torta de mamona é uma proteína com massa molar de 60.000 e ponto isoelétrico 5,9, uma das mais potentes fitotoxinas. A quantificação de proteína total solúvel foi realizada adicionando-se 2 mL de NaOH 1M a 0,5 g de torta em banho maria por 10 min e posterior centrifugação a 10.000 rpm por 10 min. Utilizou-se o sobrenadante diluído de 1/80 para quantificação colorimétrica pelo método de Bradford. Para quantificação de proteína extraída e análise de cadeia polipeptídica por eletroforese foram testadas duas soluções extratoras: tampão acetato de sódio 0,45M e HCl 0,1%/NaCl 0,6M. As extrações foram realizadas utilizando 5g de torta e 30 ml da solução extratora com agitação por 1h, sob vácuo. O filtrado foi diluído de 1/10 para quantificação de proteína. Para eletroforese foram utilizados 400 µL de cada um dos extratos adicionados de 200 µL do tampão (TRIS-HCl; dodecilsulfato de sódio (SDS); glicerol; mercaptoetanol; azul de bromofenol). Aliquotas de 30, 20 e 10 µL destes extratos foram aplicadas em gel de poliacrilamida na concentração de 15% durante 7 h sob tensão de 100V. A quantidade de proteína total solúvel encontrada foi de 9,6% da torta de mamona. Na quantificação de proteína extraída, a solução HCl/NaCl extraiu 69,8% para mamona, já com acetato a porcentagem de extração foi de 38% para mamona. Na análise de eletroforese um típico bandejamento de cadeia polipeptídica que compõe a ricina foi observado em 34,60kDa no extrato de mamona. A extração de proteínas com solução de HCl 0,1%/NaCl 0,6M foi a mais eficiente e a eletroforese se apresentou como uma eficiente ferramenta para o monitoramento das proteínas tóxicas encontradas na torta mamona.

Financiamento, CNPq.